# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

# **PCT**

# INTERNATIONALER VORLÄUFIGER BERICHT ÜBER DIE PATENTIERBARKEIT

(Kapitel II des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts H 06291 WO	WEITERES VORGE	IEN	siehe Formblatt PCT/IPEA/416					
Internationales Aktenzeichen PCT/EP2005/001543	Internationales Anmeldeda 16.02.2005	tum (Tag/Monat/Jahr)	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 19.03.2004					
Internationale Patentklassifikation (IPC) oder nationale Klassifikation und IPC INV. C07K14/195								
	Anmelder HENKEL KOMMANDITGESELLSCHAFT AUF AKTIEN et al.							
Bei diesem Bericht handelt es sich internationalen vorläufigen Prüfund Artikel 36 übermittelt wird.	internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde nach Artikel 35 erstellt wurde und dem Anmelder gemäß							
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesan	nt 5 Blätter einschließlich	dieses Deckblatts.						
<ol><li>Außerdem liegen dem Bericht ANI</li></ol>	. Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; diese umfassen							
·	-		ter; dabei handelt es sich um					
zugrunde liegen, und <i>l</i> o	ibung, Ansprüchen und <i>l</i> o der Blätter mit Berichtigur 7 der Verwaltungsvorsch	igen, denen die Behö	geändert wurden und diesem Bericht rde zugestimmt hat (siehe Regel					
Gründen nach Auffassi	Blätter, die frühere Blätter ersetzen, die aber aus den in Feld Nr. 1, Punkt 4 und im Zusatzfeld angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde eine Änderung enthalten, die über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgeht.							
angeben) , der/die ein Seq	uenzprotokoll und <i>l</i> oder die	e dazugehörigen Tabe	der/des elektronischen Datenträger(s) ellen enthält/enthalten, nur in ngegeben (siehe Abschnitt 802 der					
4. Dieser Bericht enthält Angaben zu	folgenden Punkten:							
☐ Feld Nr. I Grundlage des B	erichts							
☐ Feld Nr. II Priorität								
Anwendbarkeit		euheit, erfinderische	Tätigkeit und gewerbliche					
·	eitlichkeit der Erfindung							
	stellung nach Arikel 35(2) chen Anwendbarkeit; Unt	hinsichtlich der Neuh erlagen und Erklärung	eit, der erfinderischen Tätigkeit gen zur Stützung dieser Feststellung					
☐ Feld Nr. VI Bestimmte angef	ührte Unterlagen							
☐ Feld Nr. VII Bestimmte Mäng	el der internationalen Anr	neldung						
☐ Feld Nr. VIII Bestimmte Beme	rkungen zur international	en Anmeldung						
Datum der Einreichung des Antrags	D	Datum der Fertigstellung dieses Berichts						
08.09.2005	2	26.06.2006						
Name und Postanschrift der mit der internatio Prüfung beauftragten Behörde	nalen vorläufigen B	Bevollmächtigter Bediensteter						
Europäisches Patentamt D-80298 München Tol. (49.89.2398 - 0.Tv: 53365)	s opmud	toyanov, B						
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 52365 Fax: +49 89 2399 - 4465	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	el. +49 89 2399-7726	Tangone anno settle					

# IAP16 Rec'd PCT/PTO 19 SEP 2000

# INTERNATIONALER VORLÄUFIGER BERICHT ÜBER DIE PATENTIERBARKEIT

10/593425 Internationales Aktenzeichen PCT/EP2005/001543

_											·	
	Fel	d Nr. I	Grundlage	des Beri	chts				<u></u>			
1.	Hin	sichtlich	n der <b>Sprach</b>	e beruht c	ler Bescheid	auf						
	$\boxtimes$	der int	ernationalen	Anmeldur	ng in der Spra	ache, in d	er sie eing	gereicht wur	de.			
		einer Ü es sich	Übersetzung on um die Spra	der interna ache der Ü	ationalen Anı İbersetzung	meldung i handelt, c	n die folge lie für folg	ende Sprach enden Zwec	e , bei der k eingereic	:ht worder	n ist:	
		☐ Vei	ernationale Re röffentlichung ernationale vo	der interr	nationalen Ar	nmeldung	(nach Re	gel 12.4 a))	a))			٠
2.	Anr	neldear	n der <b>Bestand</b> mt auf eine Al ch eingereich	ufforderun	ig nach Artiki	el 14 hin v	∕orgelegt ı	uht der Beri wurden, gelt	cht auf <i>(Er</i> s en im Rahi	satzblätte nen diese	r, die den es Bericht	า s als
	· Bes	chreibu	ng, Seiten						÷			
	1-46		3, 11	, i	in der ursprüng	glich einge	reichten Fa	ssung				
	Ans	prüche,	Nr.									
	1-47			•	eingegangen a	am 14.09.2	005 mit Sc	hreiben vom (	06.09.2005			
	<b>Z</b> eio	:hnunge	en, Blätter									
		-10/10	,	i	n der ursprüng	alich einae	reichten Fa	ecuna				
	1/10	-10/10		'	n der dispidit	Jiich einge	reichten Fa	ssurig			•	
	⊠ Seq	einem uenzpro	Sequenzproto otokoll	tokoll und/	oder etwaige	n dazuge	hörigen Ta	abellen - sie	he Zusatzf	eld betreff	end das	
3.		_	nd der Änder	_	d folgende U	Interlager	fortgefall	en:				
			chreibung: Seprüche: Nr.	seite								
			chnungen: Bla juenzprotokol		Angahen)							
			aige zum Sec			nde Tabel	llen <i>(gena</i>	ue Angaben	):			
1.	Auff	elistete	Bericht ist oh n Änderunge der Behörde c)).	en erstellt v	worden, da d	liese aus	den im Zu	satzfeld and	eaebenen	Gründen	nach	
	•	☐ Ans ☐ Zeid ☐ Seq	chreibung: Se prüche: Nr. hnungen: Bla uenzprotokol	att/Abb. Il <i>(genaue</i>	Angaben):	. J. T.L.				· ·		٠
			aige zum Seq		_							
	* "er	Wenn I setzt'	Punkt 4 zu: ' versehen	trifft, werden	können ei	inige o	der alle	dieser l	Blätter i	mit der	Bemerk	ung

Begründete Feststellung nach Artikel 35 (2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Feld Nr. V Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)

Ja:

Ansprüche 1-37, 39-42, 44-47

Nein: Ansprüche 38, 43

Erfinderische Tätigkeit (IS)

Ja:

Ansprüche 1-37, 39-42, 44-47

Nein: Ansprüche 38, 43

Gewerbliche Anwendbarkeit (IA)

Ja:

Ansprüche: 1-47

Nein: Ansprüche: -

2. Unterlagen und Erklärungen (Regel 70.7):

siehe Beiblatt

# IAP16 Rec'd PCT/PTO 19 SEP 2006

# INTERNATIONALER VORLÄUFIGER BERICHT ÜBER DIE PATENTIERBARKEIT

10/593425 Internationales Aktenzeichen PCT/EP2005/001543

# Zusatzfeld betreffend das Sequenzprotokoll

Fortsetzung v	von	Feld	Nr. I	, Punkt	2:
---------------	-----	------	-------	---------	----

F	ortset	zung von Feld Nr. I, Punkt 2:					
1.	<ol> <li>Hinsichtlich der Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz, die in der internationalen Anmeldung offenbart wurde und für die beanspruchte Erfindung erforderlich ist, ist der Bericht auf folgender Grundlage erstellt worden:</li> </ol>						
	a. Art des Materials						
	×	Sequenzprotokoll					
		Tabelle(n) zum Sequenzprotokoll					
	b. Fo	orm des Materials					
	$\boxtimes$	in Papierform					
	$\boxtimes$	in elektronischer Form					
	c. Ze	itpunkt der Einreichung					
	. 🗵	in der eingereichten internationalen Anmeldung enthalten					
	$\boxtimes$	zusammen mit der internationalen Anmeldung in elektronischer Form eingereicht					
		bei der Behörde nachträglich für die Zwecke der Recherche und/oder Prüfung eingereicht					
		bei der Behörde als Änderung* eingegangen am					
2.	(	Nurden mehr als eine Version oder Kopie eines Sequenzprotokolls und/oder einer dazugehörigen Tabelle eingereicht, so sind zusätzlich die erforderlichen Erklärungen, daß die Information in den nachgereichten oder zusätzlichen Kopien mit der Information in der Anmeldung in der eingereichten Fassung übereinstimmt ozw. nicht über sie hinausgeht, vorgelegt worden.					

# 3. Zusätzliche Bemerkungen:

Wenn Feld Nr. I, Punkt 4 zutrifft, können das Protokoll und/oder die zugehörige(n) Tabelle(n, die Teil der Grundlage des Berichts sind, mit der Bemerkung "ersetzt" versehen werden.

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

- D1: WO 02/29113 A (NOVOZYMES BIOTECH, INC; NOVOZYMES A/S) 11. April 2002 (2002-04-11)
- D2: KUNST F ET AL: "THE COMPLETE GENOME SEQUENCE OF THE GRAM-POSITIVE BACTERIUM BACILLUS SUBTILIS" NATURE, MACMILLAN JOURNALS LTD. LONDON, GB, Bd. 390, 1997, Seiten 249-256, XP000919353 ISSN: 0028-0836

### Zu Punkt V

- 1. Der Gegenstand der vorliegenden Ansprüche 1-37, 39-42, 44-47 kann als neu und erfinderisch gegenüber der zu Verfügung stehende Stand der Technik betrachtet werden.
- 2. Jedoch sind die vorliegende Ansprüche 38 und 43 nicht neu. Diese Ansprüche beziehen sich auf eine unbestimmte Nukleinsäure die nur als eine "Teilsequenz" von einer bestimmten "Teilsequenz" definiert ist. Solche Nukleinsäuren sind so **unklar definiert**, daß sie nicht neu sein können. Dem entsprechend erfüllen Ansprüche 38 und 43 nicht die Erfordernisse des Artikels 33(2)(3) PCT.
- 3. Ansprüche müssen für sich genommen bereits klar sein. Dies ist im vorliegenden Fall nicht gegeben:

Der Ausdruck "...homologen Genen/homologes Gen" in den Ansprüchen 14, 16, 21 und 23 führt zu Unklarheit, da nicht klar gestellt ist wie hoch und über welchen Bereich diese Homologie sein sollte. Dementsprechend erfüllen die Ansprüche 14, 16, 21 und 23 (und damit auch alle davon abhängigen Ansprüche) nicht die Erfordernisse des Artikels 6 PCT.

CLMSPAPM6 Rec'd PCT/PTO 19 SE

Internationale Patentanmeldung Nr. PCT/EP2005/001543

10/593425

H 06291 PCT/EP

06.05.2005

Ersatzseiten 47

## Patentansprüche



- 1. Faktor RecA mit einer Aminosäuresequenz, die zu der in SEQ ID NO. 2 angegebenen Aminosäuresequenz mindestens zu 96% identisch ist.
- 2. Faktor nach Anspruch 1 mit einer Aminosäuresequenz, die zu der in SEQ ID NO. 2 angegebenen Aminosäuresequenz zunehmend bevorzugt mindestens zu 96,5%, 97%, 97.5%, 98%, 98,5%, 99%, 99,5% und ganz besonders bevorzugt zu 100% identisch ist.
- 3. Faktor RecA, codiert von einer Nukleinsäure, deren Nukleotidsequenz zu der in SEQ ID NO. 1 angegebenen Nukleotidsequenz mindestens zu 85% identisch ist.
- 4. Faktor nach Anspruch 3, codiert von einer Nukleinsäure, deren Nukleotidsequenz zu der in SEQ ID NO.1 angegebenen Nukleotidsequenz zunehmend bevorzugt mindestens zu 87,5%, 90%, 92,5%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% und ganz besonders bevorzugt zu 100% identisch ist.
- 5. Für einen Faktor RecA codierende Nukleinsäure, deren Nukleotidsequenz zu der in SEQ ID NO. 1 angegebenen Nukleotidsequenz mindestens zu 85% identisch ist.
- 6. Nukleinsäure nach Anspruch 5, deren Nukleotidsequenz zu der in SEQ ID NO. 1 angegebenen Nukleotidsequenz zunehmend bevorzugt mindestens zu 87,5%, 90%, 92,5%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% und ganz besonders bevorzugt zu 100% identisch ist.
- 7. Nukleinsäure nach Anspruch 5 oder 6, codierend für einen Faktor RecA nach einem der Ansprüche 1 bis 4.
- 8. Verwendung einer für einen Faktor RecA codierenden Nukleinsäure zur funktionellen Inaktivierung des Gens recA in einem grampositiven Bakterium, welches nicht Bacillus megaterium ist.

Internationale Patentanmeldung Nr. PCT/EP2005/001543

H 06291 PCT/EP 06.05.2005

- 9. Verwendung nach Anspruch 8, wobei eine für ein nichtaktives Protein codierende Nukleinsäure mit einer Punktmutation eingesetzt wird.
- 10 Verwendung nach Anspruch 8, wobei eine Nukleinsäure mit einer Deletions- oder Insertionsmutation eingesetzt wird, vorzugsweise umfassend die jeweils mindestens 70 bis 150 Nukleinsäurepositionen umfassenden Randsequenzen des für das Protein codierenden Bereichs.
- 11 Verwendung nach Anspruch 8, wobei Nukleinsäuren mit insgesamt zwei Nukleinsäuren säureabschnitten eingesetzt werden, die jeweils mindestens 70 bis 150 Nukleinsäuren positionen umfassen und damit den für das Protein codierenden Bereich zumindest teilweise, vorzugsweise vollständig flankieren.
- 12. Verwendung nach einem der Ansprüche 8 bis 11, wobei es sich um eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 5 bis 7 und/oder um eine Nukleinsäure handelt, deren Nukleotidsequenz zu der in SEQ ID NO. 31 angegebenen Nukleotidsequenz in den Positionen 369 bis 1415 zu mindestens 1045, vorzugsweise mindestens 1046, ganz besonders bevorzugt 1047 dieser 1047 Positionen übereinstimmt, beziehungsweise um die zumindest teilweise nichtcodierenden flankierenden Bereiche zu diesen Nukleinsäuren.
- 13. Verwendung nach einem der Ansprüche 8 bis 12, wobei das grampositive Bakterium, vorzugsweise eines der Gattungen Clostridium oder Bacillus, natürlicherweise zur Sporulation befähigt ist und gleichzeitig mit recA ein Gen aus der Phase IV der Sporulation funktionell inaktiviert wird.
- 14. Verwendung nach Anspruch 13, wobei es sich bei dem inaktivierten Gen aus der Phase IV der Sporulation in der Nomenklatur von *B. subtilis* um eines der Gene *spolVA*, *spolVB*, *spolVCA*, *spolVCB*, *spolVFA*, *spolVFB* oder *yqfD* beziehungsweise um ein hierzu homologes Gen handelt, vorzugsweise im Fall von *B. subtilis* um das Gen *yqfD*, im Fall von *Bacillus licheniformis* um das Gen *spolV* und in jedem anderen Fall um ein hierzu homologes Gen.

- 15. Verwendung nach Anspruch 13 oder 14, wobei genau ein Gen aus der Phase IV der Sporulation funktionell inaktiviert wird.
- 16. Verwendung nach Anspruch 14 oder 15, wobei die funktionelle Inaktivierung der Gene spolVA, spolVB, spolVCA, spolVCB, spolVFA, spolVFB, yqfD oder spolV beziehungsweise den hierzu jeweils homologen Genen mithilfe der Sequenzen SEQ ID NO. 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, oder 17 oder Teilen davon erfolgt, vorzugsweise mithilfe von Teilen, die mindestens 70 bis 150 zusammenhängende Nukleinsäurepositionen umfassen, besonders bevorzugt mithilfe von zwei solchen Teilen, die einen dazwischenliegenden Teil des Gens umschließen.
- 17. Grampositives Bakterium, welches nicht *Bacillus megaterium* ist, bei dem das Gen *recA* funktionell inaktiviert ist.
- 18. Grampositives Bakterium nach Anspruch 17, wobei die funktionelle Inaktivierung über Punktmutagenese, teilweise Deletion oder Insertion oder vollständige Deletion des für das vollständige Protein codierenden Bereichs erfolgt ist.
- 19. Grampositives Bakterium nach Anspruch 17 oder 18, wobei die funktionelle Inaktivierung über eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 5 bis 7 und/oder über eine Nukleinsäure erfolgt ist, deren Nukleotidsequenz zu der in SEQ ID NO. 31 angegebenen Nukleotidsequenz in den Positionen 369 bis 1415 zu mindestens 1045, vorzugsweise mindestens 1046, ganz besonders bevorzugt 1047 dieser 1047 Positionen übereinstimmt, beziehungsweise über die zumindest teilweise nichtcodierenden flankierenden Bereiche zu diesen Nukleinsäuren.
- 20. Grampositives Bakterium nach einem der Ansprüche 17 bis 19, vorzugsweise eines der Gattungen Clostridium oder Bacillus, das natürlicherweise zur Sporulation befähigt ist und bei dem gleichzeitig mit recA ein Gen aus der Phase IV der Sporulation funktionell inaktiviert ist.
- 21. Grampositives Bakterium nach Anspruch 20, wobei es sich bei dem inaktivierten Gen aus der Phase IV der Sporulation in der Nomenklatur von *B. subtilis* um eines der Gene *spolVA*, *spolVB*, *spolVCA*, *spolVCB*, *spolVFA*, *spolVFB* oder *yqfD*

Internationale Patentanmeldung Nr. PCT/EP2005/001543

PCT/EP05/015 43 H 06291 PCT/EP

06.05.2005

### Ersatzseiten 50

beziehungsweise um ein hierzu homologes Gen handelt, vorzugsweise im Fall von *B. subtilis* um das Gen *yqfD*, im Fall von *Bacillus licheniformis* um das Gen *spolV* und in jedem anderen Fall um ein hierzu homologes Gen.

- 22. Grampositives Bakterium nach Anspruch 20 oder 21, wobei genau ein Gen aus der Phase IV der Sporulation funktionell inaktiviert ist.
- 23. Grampositives Bakterium nach Anspruch 21 oder 22, wobei die funktionelle Inaktivierung der Gene spolVA, spolVB, spolVCA, spolVCB, spolVFA, spolVFB, yqfD oder spolV beziehungsweise den hierzu jeweils homologen Genen mithilfe der Sequenzen SEQ ID NO. 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, oder 17 oder Teilen davon erfolgt ist, vorzugsweise mithilfe von Teilen, die mindestens 70 bis 150 zusammenhängende Nukleinsäurepositionen umfassen, besonders bevorzugt mithilfe von zwei solchen Teilen, die einen dazwischenliegenden Teil des Gens umschließen.
- 24. Grampositives Bakterium nach einem der Ansprüche 17 bis 23, wobei es sich um eines der Gattungen Clostridium oder Bacillus handelt, insbesondere um eines der Spezies Bacillus subtilis, B. licheniformis, B. amyloliquefaciens, B. stearothermophilus, B. globigii, B. clausii oder B. lentus, und ganz besonders um einen Stamm von B. licheniformis.
- 25. Verfahren zur Fermentation eines grampositiven Bakteriums nach einem der Ansprüche 17 bis 24.
- 26. Verfahren nach Anspruch 25 zur Herstellung eines Wertstoffs, insbesondere einer niedermolekularen Verbindung oder eines Proteins.
- 27. Verfahren nach Anspruch 26, wobei es sich bei der niedermolekularen Verbindung um einen Naturstoff, einen Nahrungsmittelergänzungsstoff oder um eine pharmazeutisch relevante Verbindung handelt.

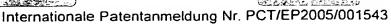
06.05.2005

- 28. Verfahren nach Anspruch 26, wobei es sich bei dem Protein um ein Enzym handelt. insbesondere eines aus der Gruppe der α-Amylasen, Proteasen, Cellulasen, Lipasen, Oxidoreduktasen, Peroxidasen, Laccasen, Oxidasen und Hemicellulasen.
- 29. Verwendung des Faktors RecA nach einem der Ansprüche 1 bis 4 und/oder eines RecA, welches mit der in SEQ ID NO. 32 angegebenen Aminosäuresequenz in mindestens 347, vorzugsweise 348 der dort gezeigten 348 Aminosäurepositionen übereinstimmt, in einem molekularbiologischen Reaktionsansatz.
- 30. Verwendung nach Anspruch 29 zum Stabilisieren einzelsträngiger DNA, insbesondere bei einer DNA-Polymerisation, bei in vitro erfolgenden Rekombinationsvorgängen, oder zum Überführen doppelsträngiger DNA in einzelsträngige DNA oder umgekehrt.
- 31. Vektor, enthaltend eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 5 bis 7.
- 32. Vektor nach Anspruch 31, wobei es sich um einen Expressionsvektor handelt.
- 33. Verfahren zur Herstellung eines Faktors RecA nach einem der Ansprüche 1 bis 4.
- 34. Verfahren nach Anspruch 33, unter Einsatz einer Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 5 bis 7, vorzugsweise eines Expressionsvektors nach Anspruch 32, weiter bevorzugt durch Fermentation eines diese Nukleinsäure beziehungsweise diesen Expressionsvektor enthaltenden Wirts.
- 35. Verwendung der für einen Faktor RecA nach einem der Ansprüche 1 bis 4 codierenden Nukleinsäure zur Expression dieses Faktors.
- 36. Verwendung nach Anspruch 35, um diesen Faktor selbst herzustellen, insbesondere in einem Verfahren nach Anspruch 34, oder um molekularbiologische Aktivitäten der betreffenden Zellen zu modulieren, insbesondere bei in vivo erfolgenden Rekombinationsvorgängen.

- 37. Verwendung der für einen Faktor RecA codierenden Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 5 bis 7 und/oder einer für einen Faktor RecA codierenden Nukleinsäure, deren Nukleotidsequenz zu der in SEQ ID NO. 31 angegebenen Nukleotidsequenz in den Positionen 369 bis 1415 zu mindestens 1045, vorzugsweise mindestens 1046, besonders bevorzugt 1047 dieser 1047 Positionen übereinstimmt, zur Inaktivierung dieses Faktors oder des Gens *recA* in einem *In-vitro-*Ansatz, insbesondere über Wechselwirkung mit einer zugehörigen Nukleinsäure.
- 38. Eine für eine Teilsequenz von *recA* codierende oder für eine mit *recA* in vivo benachbarte Teilsequenz, vorzugsweise weniger als 1.000 bp, besonders bevorzugt weniger als 500 bp entfernt liegende Nukleinsäure gemäß einer der SEQ ID NO. 25 bis 29.
- 39. Verwendung mindestens einer, vorzugsweise von mindestens zwei einander entgegenorientierten Nukleinsäuren gemäß SEQ ID NO. 25 bis 30 zur Amplifizierung eines *in vivo* davon umschlossenen DNA-Bereichs.
- 40. Verwendung nach Anspruch 39 zur Amplifizierung eines recA-Gens.
- 41. Verwendung nach Anspruch 39 oder 40 im Rahmen eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 8 bis 16.
- 42. Verwendung nach einem der Ansprüche 39 bis 41 zur Erzeugung eines grampositiven Bakteriums nach einem der Ansprüche 17 bis 24.
- 43. Eine für eine Teilsequenz von *spolV* codierende oder für eine mit *spolV* in *vivo* benachbarte Teilsequenz, vorzugsweise weniger als 1.000 bp, besonders bevorzugt weniger als 500 bp entfernt liegende Nukleinsäure gemäß einer der SEQ ID NO. 22 bis 24.
- 44. Verwendung mindestens einer, vorzugsweise von mindestens zwei einander entgegenorientierten Nukleinsäuren gemäß SEQ ID NO. 25 bis 30 zur Amplifizierung eines *in vivo* davon umschlossenen DNA-Bereichs.



CEMSPAMD)





- 45. Verwendung nach Anspruch 44 zur Amplifizierung eines spolV-Gens.
- 46. Verwendung nach Anspruch 44 oder 45 im Rahmen eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 13 bis 16.
- 47. Verwendung nach einem der Ansprüche 44 bis 46 zur Erzeugung eines grampositiven Bakteriums nach einem der Ansprüche 20 bis 24.